



Rapport annuel d'activité, année 2023

Laboratoire National de Référence

**Brucelloses animales
(y compris pour le contrôle des brucellines)**

Nom du responsable du LNR

Claire PONSART

Nom du laboratoire où l'activité du LNR est mise en œuvre

Laboratoire de santé animale -- site de Maisons-Alfort

Nom de l'unité où l'activité du LNR est mise en œuvre

Zoonoses Bactériennes

Dangers sanitaires tels que définis par l'article L.201-1 du code rural et de la pêche maritime couverts par le mandat

Suite à l'application du Règlement (UE) 2016/429, dit « Loi de Santé Animale »,

- Les infections à *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* et *Brucella suis* sont classées B+D+E pour les ruminants. Cela signifie que ces maladies sont présentes dans l'UE et que leur éradication est obligatoire.

- Des mesures sanitaires sont également prévues pour ces mêmes infections chez d'autres espèces sensibles comme les suidés, camélidés et autres artiodactyles ainsi que chez les équidés, carnivores et lagomorphes.

- Épididymite contagieuse ovine à *Brucella ovis* est classée D+E pour les ovins. Cela signifie que la propagation de cette maladie doit être stoppée (dispositions relatives aux mouvements d'animaux dans l'Union, à l'import et à l'export).

Par ailleurs, l'infection des canins à *Brucella canis* est inscrite sur la liste nationale, considérant qu'il peut être nécessaire, dans un but d'intérêt collectif, de mettre en œuvre des mesures nationales à son égard.

Les faits marquants de l'année

- Finalisation de l'appui à la DGAL (réactions sérologiques faussement positives)

- Modification de la liste MOT dans l'arrêté du 26 avril 2023 fixant la liste des micro-organismes et toxines prévue à l'article L. 5139-1 du Code de la santé publique : seules les bactéries *B. abortus/suis/melitensis* sont encore classées dans l'annexe B de la liste MOT. Les ADN ne sont plus considérés comme MOT.

- Production de sérum mono-spécifique

- Détection de *Brucella* dans le lait et le fromage : convention CNIEL + projet LFB, accepté par CASDAR

- Validation d'un kit ELISA de confirmation, ajouté dans une Instruction Technique DGAL

- Projet SCC-AGRIA avec ENVA sur brucellose canine

- Collaborations avec pays-tiers (hors UE) : Egypte, Zambie, Turquie, Géorgie et Azerbaïdjan

Abréviations

- ADILVA - Association Française des Directeurs et Cadres de Laboratoires Vétérinaires Public d'Analyses
- ADN - acide désoxyribonucléique
- AFNOR - Association française de normalisation
- APMS - Arrêté Préfectoral de Mise sous Surveillance
- BAB - Blood Agar Base
- CASDAR - Compte d'affectation spécial pour le développement agricole et rural
- CEN/TC 469- European Committee for Standardization / Technical Committee Animal Health
- CES SABA - Comité d'experts spécialisé santé et bien-être des animaux
- CNIEL - Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière
- DGAL - Direction générale de l'Alimentation
- DTRA - Defense Threat Reduction Agency
- EAT - épreuve à l'antigène tamponné
- ECDC - European Centre for Disease Prevention and Control
- EFSA - European Food Safety Authority
- ELISA - enzyme linked immune-sorbent assay
- ENVA - Ecole nationale vétérinaire d'Alfort
- FC - fixation du complément
- GDS - Groupements de défense sanitaire

- HRM - high resolution melting
- LFB – Lait Fromage *Brucella*
- LFIA - lateral flow immunoassay
- MAT - Microplate Agglutination Test
- MOT – Microorganismes ou toxines hautement pathogènes
- MRI - Matériau de référence interne
- OMSA - Organisation mondiale de la santé animale
- PCR - polymerase chain reaction
- RSAT - rapid slide agglutination test
- SCC - Société centrale canine

1. Méthodes développées ou révisées

Activités relatives au développement de méthodes

Sans objet

Nombre de méthodes développées ou révisées, prêtes à être mises en œuvre

0

Nombre total de méthodes transférées par le LNR à son réseau dans l'année

1 méthode(s)

Intitulé de chacune des méthodes transférées

MAT – technique de séroagglutination en plaque (Microplate Agglutination Test – MAT) La technique est destinée à la recherche des anticorps dirigés contre l'infection à *Brucella canis* chez les espèces canines, modifiée à partir du test d'agglutination en tubes avec mercapto-éthanol.

2. Matériels biologiques ou chimiques, échantillons et souches d'intérêt

Information disponible auprès du LNR.

3. Activités d'analyse

3.1 Analyses officielles de première intention

Nombre d'analyses officielles de première intention réalisées dans l'année

1062 analyse(s)

Détail par type d'analyse de première intention

- Sérologie : 1031 échantillons, dont EAT : 33, ELISA : 161, FC ovins : 40, Sérologie *B canis* : 372 LFIA, 109 RSAT et 316 MAT
- Recherche de *Brucella* par culture (échantillons d'origine animale) : 31 échantillons Evolution générale : diminution par rapport à 2022, à considérer comme un retour à une activité « normale » (crises sanitaires en 2021-2022, avec le foyer de brucellose bovine et l'émergence de brucellose canine).

3.2 Analyses officielles de confirmation

Nombre d'analyses officielles de seconde intention réalisées dans l'année

266 analyse(s)

Détail par type d'analyse de confirmation

- Confirmations sérologiques : 181, dont confirmation lait bovin : 77, confirmation sérum bovin : 57 FC, 47 ELISA de confirmation

- Identification et typage de souches reçues au LNR : 85, dont souches canines : 2, analyses SAGIR : 9 lièvres, souches de bouquetins : 12, souches porcines : 57, souches de camélidés : 5
Evolution générale : diminution par rapport à 2022, à considérer comme un retour à une activité « normale » (crises sanitaires en 2021-2022, avec le foyer de brucellose bovine et l'émergence de brucellose canine).

3.3 Autres analyses

Nombre estimé d'autres analyses (non officielles) réalisées dans l'année en lien avec le mandat de LNR

346 analyse(s)

Détail par type d'autres analyses

- PCR détection du genre *Brucella* sur prélèvements/souches : 220
 - PCR-HRM sur souches (identification de l'espèce) : 25 (19 *B. melitensis*, 1 *B. abortus*, 5 *B. suis*)
 - Séquençage du génome complet : 101 souches séquencées
- Evolution générale : diminution de l'utilisation des méthodes moléculaires pour la détection et l'identification. Diminution par rapport à 2022, à considérer comme un retour à une activité « normale » (crises sanitaires en 2021-2022, avec le foyer de brucellose bovine et l'émergence de brucellose canine).

3.4 Essais interlaboratoires d'aptitude auxquels le LNR a participé dans l'année

Détail des essais interlaboratoires d'aptitude (EILA) auxquels le LNR a participé dans l'année, dans le cadre : National; UE (en particulier les EILA organisés par le LRUE); International

- National : 0
- UE (en particulier les EILA organisés par le LRUE) : 0
- International : 1 en sérologie (organisé par Sciensano)

4. Activités de production et de contrôle de matériaux de référence et de réactifs biologiques

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR uniquement

Oui

Types de réactifs produits (antigènes, kits, autres)

Milieux de culture sélectifs ou non, solides ou liquides. *Brucella*-phages (Tb, Wb, Iz, R/C).

Nombre de lots produits dans l'année

- 28 lots de géloses BS
- 18 lots de géloses Farrell
- 3 lots de milieux CITA liquide
- 10 lots de milieux CITA solide
- 12 lots de milieux Christensen
- 4 lots de milieux BAB 2

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) de l'activité sur les 5 dernières années

Augmentation de production liée à certaines activités de bactériologie (développement de méthodes dans le lait et le fromage ; collaborations avec pays tiers)

Le LNR produit des réactifs à usage du LNR et du réseau

Oui

Types de réactifs produits et fournis (antigènes, kits, autres)

Antigène *Brucella canis*

Sérums anti-*Brucella* : S, R, M et négatif

Nombre de lots produits dans l'année

1 (sérum anti-*Brucella* R)

Nombre d'unités distribuées au plan national

17 sérums anti-*Brucella* ; 1 antigène *Brucella canis*

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) de l'activité sur les 5 dernières années

Stable

Le LNR produit des matériaux de référence à usage du LNR uniquement

Oui

Types de matériaux de référence produits (MRI, contrôle positif ou négatif, autre)

MRI, contrôle positif ou négatif

Format (sérum, souche, produit chimique, autre) de ces matériaux de référence

Souches/ADN de référence

Nombre de lots produits dans l'année

Pour les souches et les ADN : maintien de la souchothèque et de la ADNthèque de référence

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) de l'activité sur les 5 dernières années

Stable

Le LNR produit des matériaux de référence à usage du LNR et du réseau

Oui

Types de matériaux de référence produits et fournis (MRE, MRI, contrôle positif ou négatif, autre)

Sérum positif et négatif de référence *B. ovis* (MRI) Panel bovin/porcin. Les sérums de référence sont destinés aux producteurs de réactifs sur le marché français (quantité limitée).

Souches

Format (sérum, souche, produit chimique, autre) de ces matériaux de référence

Sérums, souches, ADN

Nombre de lots produits dans l'année

0

Nombre d'unités distribuées au plan national

Sérum étalon national : 2 flacons
Contrôle positif *B. ovis* : 18 flacons
Contrôle positif *B. ovis* : 12 flacons
Panel bovin des sérums : 21 flacons

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) de l'activité sur les 5 dernières années

Augmentation

Le LNR réalise des contrôles de réactifs commerciaux

Oui

Modalités de contrôle (contrôles initiaux, contrôles aléatoires de lots, contrôles lot par lot)

Contrôles initiaux et lot par lot

Nombre de contrôles - ou de lots contrôlés - dans l'année

- Contrôle initial de conformité : 1 kit ELISA sérum
- Contrôle de lots d'antigènes de diagnostic : 8 (EAT) ; 2(FC)
 - Contrôle de lots de kits ELISA sérum : 3
 - Contrôle de lots de kits ELISA lait : 3
 - Contrôle de lots de sérums de contrôle : 2

Analyse de l'évolution (augmentation, diminution) de l'activité sur les 5 dernières années

Augmentation, en lien avec les demandes des fournisseurs

5. Activités d'appui scientifique et technique

5.1 Demandes d'appui scientifique et technique (AST) des ministères (de l'agriculture, de la santé ...) ou d'instances européennes ou internationales qui concernent le domaine de compétence du LNR

Nombre de demandes d'AST reçues dans l'année

0 demande(s)

Nombre de rapports d'AST rendus dans l'année, issus de demandes de l'année ou de l'année précédente

0 rapport(s)

5.2 Autres expertises

Les membres de l'équipe du LNR peuvent avoir des activités d'expertise (internes : CES, GT ou externe : EFSA ...) ou des activités auprès de commissions de normalisation (Afnor ...).

- AFNOR : Commission santé animale (U47A), révision de normes brucellose en cours et groupe de travail (GT immunosérologie) ;
- CEN/TC 469 et WG1 (contrôle de réactifs) –;
- CES SABA– ;
- Saisine Anses dépistage brucellose (2022-SA-0036) ;
- EFSA : rédaction du chapitre Brucellose du rapport annuel EFSA - ECDC sur les zoonoses, participation à la rédaction du *dashboard* et de la *story map*

Estimation du temps consacré à ces activités : 41 jours

5.3 Dossiers de demande d'agrément

Nombre de dossiers de demande d'agrément étudiés dans l'année

0 dossier(s)

5.4 Activités d'appui

Description de ces activités et estimation du temps consacré

- Plusieurs articles et communications professionnelles sur brucellose canine ; 2 jours/communication

Echanges de mails et appels téléphoniques quotidiens (1 appel ou 1 email / jour)

6. Animation du réseau de laboratoires agréés ou reconnus

6.1 Description du réseau

Animation d'un réseau de laboratoires agréés

Oui

Nombre de laboratoires agréés dans le réseau

86 laboratoires

Animation d'un réseau de laboratoires reconnus

Non

6.2 Essais interlaboratoires d'aptitude

6.2.1 Organisation d'essais interlaboratoires d'aptitude

Nombre d'EILA organisés par le LNR au cours de l'année

2 EILA

Nom du 1^{er} EILA

EILA Brucellose-bactériologie

EILA mutualisé avec le LRUE

L'EILA est-il réalisé sous accréditation "17043"?

Non

Nombre de laboratoires participants

34 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants

5 laboratoire(s) agréé(s)

Le LNR a-t-il participé à l'EILA?

Non

Nombre de laboratoires participants en cours de demande d'agrément

0 laboratoires) en demande d'agrément

Nombre d'autres laboratoires participants

29 laboratoire(s)

Détail des autres laboratoires participants: français/étrangers

Étrangers (LNR)

Nombre de laboratoires dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante par le LNR**

0 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante par le LNR**

0 laboratoire(s) agréé(s)

Evolution du réseau dans le temps

Maintien des performances dans le temps

Nom du 2ème EILA

EILA Brucellose sérum bovin, EILA mutualisé avec le LRUE

Cet EILA est-il réalisé sous accréditation "17043"?

Non

Nombre de laboratoires participants à cet EILA

110 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés participants à cet EILA

77 laboratoire(s) agréé(s)

Le LNR a-t-il participé à cet EILA?

Non

Nombre de laboratoires participants à cet EILA, en cours de demande d'agrément

0 laboratoire(s) en demande d'agrément

Nombre d'autres laboratoires participants à cet EILA

33 laboratoire(s)

Détail des autres laboratoires participants à cet EILA: français/étrangers

Étrangers (LNR)

Nombre de laboratoires dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante par le LNR**

0 laboratoire(s)

Nombre de laboratoires agréés dont la performance individuelle a été jugée non satisfaisante par le LNR**

0 laboratoire(s) agréé(s)

Evolution du réseau de cet EILA dans le temps

Maintien des performances dans le temps

6.2.2 Exploitation de résultats d'essais interlaboratoires d'aptitude organisé par un tiers

Le LNR exploite les résultats d'EILA organisé(s) par un (des) tiers (LRUE, autre...)

Non

(**) Au sens de la norme 17043

6.3 Autres actions visant à vérifier l'aptitude des laboratoires

Actions mises en œuvre

Essai bilatéral - technique de séroagglutination en plaque (Microplate Agglutination Test – MAT)

6.4 Formation, organisation d'ateliers

Nombre de journées d'échange et de restitution rassemblant les laboratoires agréés du réseau, organisées dans l'année

5 journée(s)

Détail de ces activités et nombre de participants par journée

- 2 webinaires : « Restitution des résultats du pré Jourdan », le 15 mars et « Retour d'expérience du LNR suite au foyer de brucellose bovine en Haute-Savoie », le 31 mai (1-2 personnes par laboratoire agréé en bactériologie) ;
- 1 webinaire sur ELISA de confirmation « Validation d'un kit ELISA de confirmation », le 1^{er} juin (1-2 personnes par laboratoire agréé en sérologie) ;
- 2 réunions d'échange avec les laboratoires agréés en bactériologie brucellose et ADILVA, le 3 juillet et 20 décembre (1-2 personnes par laboratoire agréé en bactériologie)

Nombre de sessions de formation des personnels des laboratoires agréés aux méthodes utilisées pour les contrôles officiels, organisées dans l'année

0 session(s) de formation

Autres formations dans le cadre des activités du LNR

sans objet

6.5 Organisation d'autres essais interlaboratoires (EIL)

Nombre d'EIL de validation (EILV) organisés par le LNR au cours de l'année

3 EILV

Nom des EILV et détail du nombre de laboratoires ayant participé pour chaque EILV

- ELISA sérum bovin - 5 laboratoires
- ELISA sérum bufflonne - 5 laboratoires
- ELISA *B. ovis* - 5 laboratoires

Nombre d'EIL de transfert (EILT) organisés par le LNR au cours de l'année

0 EILT

7. Surveillance, alertes

7.1 Surveillance programmée par l'autorité sanitaire, notamment PS/PC et prophylaxie officielle en santé animale

L'autorité sanitaire a mis en œuvre dans l'année une surveillance programmée dans le champ du LNR

Oui

7.2 Autres activités de surveillance

Le LNR est impliqué dans des activités de surveillance autres que celle programmée par l'autorité sanitaire

Oui

Cadre de ces activités

- Biotox - Piratox
- SAGIR (analyses de lièvres)

Activités dans lesquelles le LNR a été impliqué dans le cadre de Biotox - Piratox

Animation/coordination, réalisation d'analyses de confirmation, appui scientifique et technique (analyses de données, etc...)

Activités dans lesquelles le LNR a été impliqué dans le cadre de SAGIR (analyses de lièvres)

Réalisation d'analyses de confirmation, appui scientifique et technique (analyses de données, etc...)

7.3 Fiches d'alerte ou de signal

Le LNR a émis dans l'année des fiches d'alerte ou de signal dans Salsa (système d'alerte sanitaire de l'Anses)

Oui

Nombre de fiches émises dans Salsa dans l'année:

4 fiche(s)

8. Activités de recherche en lien avec l'activité de référence

Acronyme	Titre	Statut
DTRA	Biosurveillance of Brucellosis in Azerbaijan, Georgia and Turkey	en cours
Reblochon (CNIEL)	Développer et optimiser les méthodes d'analyse de <i>Brucella</i> dans le lait et le reblochon	terminé
LFB (CASDAR)	Développer et optimiser les méthodes d'analyse de <i>Brucella</i> dans le lait et le reblochon	en cours
SCC-AGRIA	Estimation de la circulation de <i>Brucella canis</i> dans les élevages canins et facteurs associés au risque d'infection en France	en cours

9. Relations avec le CNR

Existence d'un CNR dont le mandat recouvre au moins en partie celui du LNR

Oui

Intitulé du CNR

CNR-LE *Brucella*

Organisme porteur du CNR

Centre Hospitalier Universitaire de Nîmes

Rencontre organisée dans l'année avec le CNR

Oui

Collaboration avec le CNR dans le cadre de la surveillance

Projet de collaboration avec le CNR en Guyane (*B. amazoniensis*)

Collaboration avec le CNR dans le cadre de projets de recherche
sans objet

Autres collaborations avec le CNR, le cas échéant
sans objet

Transfert de matériel biologique
Oui

10. Relations avec le LRUE

Détention d'un mandat LRUE qui recouvre au moins en partie celui du LNR
Oui

Intitulé du mandat de LRUE
Brucellosis

11. Détention d'autres mandats de référence au niveau international

Autres mandats détenus par le LNR dans le même domaine de compétences
Laboratoire de Référence OMSA

Intitulé(s) officiel(s)

- Laboratoire de référence OMSA pour *Brucella abortus*, *B. melitensis* et *B. suis*
- Laboratoire de référence OMSA pour l'épididymite contagieuse du bélier

ANNEXES

Liste des publications et communications 2023 dans le cadre du mandat de LNR Brucelloses animales (y compris pour le contrôle des brucellines)

Les noms des auteurs appartenant au LNR sont soulignés. Les publications de cette liste sont sous presse ou publiées.

Publications destinées aux professionnels ou au grand public ('journal article', classement « RPro »)

Ponsart, C., A. Fontbonne. 2023. L'essentiel sur la brucellose canine. *Pratique Vet*, 58 : 25-30.

Ponsart, C. Interview de Frédéric Mouchon, le Parisien, 15 juin 2023. *Brucella canis* : faut-il craindre cette nouvelle bactérie qui affecte les chiens et peut infecter leurs maîtres ?

Publications scientifiques nationales et internationales ('journal article', classement « RCL »)

Barros, N. L. C., M. L. Ribeiro, A. R. Freitas, R. R. Delai, L. B. Kmetiuk, W. S. R. Teixeira, C. M. Appolinario, C. T. Pimpão, C. Ponsart, A. F. Vicente, A. W. Biondo, J. Megid. 2023. « Serological and molecular survey of *Brucella* species in owners and their dogs living on island and mainland seashore areas of Brazil. » *Vector Borne Zoonotic Dis* 0 (0) Nov 1. <https://doi.org/10.1089/vbz.2023.0061>.

Vinueza, R. L., B. Durand, F. Ortega, F. Salas, A. F. Vicente, L. Freddi, C. Ponsart, G. Zanella. 2023. « Farm prevalence of bovine brucellosis, farmer awareness, and local practices in small- and medium-scale cattle farms in a tropical region of Ecuador. » *Hindawi Transboundary and Emerging Diseases*. <https://doi.org/10.1155/2023/6242561>.

Freddi, L., A. F. Vicente, E. Petit, M. Ribeiro, Y. Game, Y. Locatelli, I. Jacques, M. Riou, M. Jay, B. Garin-Bastuji, S. Rossi, V. Djokic, C. Ponsart. 2023. « Evaluation of a Lateral Flow Immunochromatography Assay (LFIA) for diagnosis and surveillance of Brucellosis in French Alpine Ibex (*Capra ibex*). » *Microorganisms* 11, 1976. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11081976>.

Lambert, S., A. Thébault, S. Anselme-Martin, C. Calenge, C. Dunoyer, L. Freddi, B. Garin-Bastuji, B. Guyonnaud, J. Hars, P. Marchand, A. Payne, É. Petit, C. Ponsart, E. Quéméré, C. Toïgo, A. van de Wiele, S. Rossi, E. Gilot-Fromont. 2023. « La brucellose du bouquetin des Alpes - Un exemple de dix années de recherche et d'expertise. » *médecine/sciences* 39 : 722-31. <https://doi.org/10.1051/medsci/2023132>

Djokic, V., L. Freddi, F. de Massis, E. Lahti, M. H. van den Esker, A. Whatmore, A. Haughey, A. C. Ferreira, G. Garofolo, F. Melzer, F. Sacchini, A. Koets, S. Wyllie, A. Fontbonne, G. Girault, A. F. Vicente, J. McGiven, C. Ponsart. 2023. « The emergence of *Brucella canis* as a public health threat in Europe: what we know and what we need to learn. » *Emerging Microbes & Infections* 12, 2249126. <https://doi.org/10.1080/22221751.2023.2249126>.

Girault, G., V. Djokic, F. Petot-Bottin, L. Perrot, T. Bourgoïn, S. Hoffmann, A. F. Vicente, C. Ponsart, L. Freddi. 2023. « Molecular investigations of two first *Brucella suis* biovar 2 infections cases in french dogs. » *Pathogens* 12, 792. <https://doi.org/10.3390/pathogens12060792>

Communications nationales ('conference proceedings ou 'conference paper')

Ferreira Vicente, A., L. Freddi, C. Ponsart. 2023. « Restitution des résultats du pré Jourdan. » Webinaire pour le réseau national des laboratoires agréés. Communication en ligne. Maisons-Alfort, France, 15 mars

Ponsart, C. 2023. « Retour d'expérience du Laboratoire National de Référence suite au foyer de brucellose bovine en Haute-Savoie. » Webinaire pour le réseau national des laboratoires agréés. Communication en ligne. Maisons-Alfort, France, 31 mai

Ponsart, C. 2023. « Validation d'un kit ELISA de confirmation. » Webinaire pour le réseau national des laboratoires agréés. Communication en ligne. Maisons-Alfort, France, 1 juin

Ponsart, C. 2023. « Premiers résultats d'un projet de l'EJP One Health: "IDEMBRU" *Brucella* émergentes. » COT santé, alimentation et Bea. Communication en ligne. Maisons-Alfort, France, 1 juin

Michelet, L., K. Laroucau, C. Ponsart. 2023. « La (Ré)émergence des bactéries zoonotiques: l'expérience d'UZB » SAPS. Communication en ligne, 12 octobre

Communications internationales (‘conference proceedings ou ‘conference paper’)

Ponsart, C. 2023. "Animal brucellosis: host range and symptoms." STOR Mediterranean Animal Health Network, Palermo, 23 November 2023.

Conférences sur invitation

Ponsart, C. 2023. « Estimation de la circulation de *Brucella canis* dans les élevages canins et facteurs associés au risque d'infection en France. » Société Centrale canine & Fonds AGRIA. Paris, France, 20 avril 2023.